STUDIEN ÜBER KERATINE

NEBST EINEM ANHANG:

VERSUCH ZUR DARSTELLUNG EINER JODIERTEN AMINOSÄURE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

ERNST SIEMERING

AUS

TILSIT.

ACAD. LUDWIGSBAT BIBL.

WÜRZBURG.

C. J. BECKER'S UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI.

1904.

MEINEN

LIEBEN ELTERN

IN

DANKBARKEIT

GEWIDMET.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0065

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn

Obermedizinalrat Hofrat Professor Dr. *A. Hilger*

für das Wohlwollen und Interesse, welches er meinem Studium und besonders dieser Arbeit entgegengebracht, sowie Herrn

Dr. phil. *E. Strauss*

auf dessen Anregung und unter dessen Leitung ich meine Untersuchungen ausgeführt habe, für die liebenswürdige Unterstützung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Beitrag zur Kenntnis der Keratine.

Einleitung.

Nachdem es durch eine ganze Reihe von Untersuchungen gelungen ist, die Eiweisskörper in Teile zu zerlegen, welche zwar im Allgemeinen noch Eiweisscharakter besitzen, aber für sich allein besondere Eigenschaften aufweisen, liegt der Gedanke nah, dass Eiweisskörper, bezw. aus ihnen hervorgegangene Substanzen dadurch könnten charakterisiert werden, dass man sie in die erwähnten höheren Spaltprodukte zerlegt, und diese mit den Spaltprodukten der nativen Eiweisskörper vergleicht. Die hier erwähnten Spaltprodukte sind die sog. Albumosen. Es war zu erwarten, dass die Albumosen, welche man auf irgend eine Weise, z. B. aus den Albuminoiden würde gewinnen können, besonders deutliche Kennzeichen für das betreffende Ausgangsmaterial aufweisen würden. Ich habe in der folgenden Arbeit unter Zugrundelegung dieser Idee eine vergleichende Untersuchung zweier Keratine durchgeführt.

Mit dem Sammelnamen Keratine bezeichnet man eine Reihe von eiweissartigen Substanzen, welche die Grund-

lage des Horngewebes der Tiere bilden. Dieses Gewebe nimmt physiologisch bald die Bedeutung eines Stützgewebes, bald die eines Deckgewebes an. Nach Massgabe der verschiedenen Inanspruchnahme im Tierkörper dürften also wohl die Keratine auch konstitutionelle Verschiedenheiten aufweisen. Es ist anzunehmen, dass die Horngebilde z. B. des Pferdehufes andere sind, als die der Eihüllen des Hühnereies, oder die Haarbüschel, welche sich in den Ovarialcysten vorfinden.

Die beiden Keratine, deren Untersuchung ich in folgendem beschreiben will, sind: Das Keratin des Ochsenhorns und das Schalenhautkeratin des Hühnereies. Bevor ich jedoch auf eine Darstellung meiner Versuche, welche tatsächlich zu einer scharfen Unterscheidung dieser beiden Keratine geführt haben, übergehe, dürfte es von Interesse sein, durch eine kurze Darstellung der bisherigen Untersuchungen einen Gesammtüberblick über diese Gruppe zu gewinnen.

I.

Historischer Teil.

Schlossberger[1]) nennt das Horngewebe der Wirbeltiere direkt das epitheliale Gewebe und stellt unter dieser Bezeichnung die verschiedenen Horngebilde übersichtlich zusammen; es sei gestattet, diese vortreffliche Übersicht hier zuvörderst wiederzugeben:

A. Äussere oder Cutisgebilde.

1. Die Oberhaut mit ihren 2 Schichten.
2. Die äusseren Schwielen, d. h. sehr starke, haarfreie Verdickungen der Hornschicht der Epidermis.
3. Die Nägel, Krallen, Klauen, Hufe (deutlich bis zu den Cheloniern und Sauriern).
4. Die Hörner.
5. Die Haare.
6. Die Schuppen.
7. Die Federn der Vögel.

B. Innere Horngebilde.

1. Die Epithelien der Schleimhäute, Serosen der Gefässe, Schleimbeutel (bursae mucosae) der Wirbeltiere.

2. Die Zungenstacheln und Zungenplatten (Katzen, einige Vögel, Amphibien).
3. Die Hornzähne (Echidna, Schnabeltiere, Rhytina und Orycterapus, Cyclostomen).
4. Die Stacheln des Oesophagus bei den Cheloniern.
5. Die Barten des Walfisches (Oberkiefer).
6. Die Hornplatten des Vogelmagens vgl. Keratinoïde Substanz von *Hedenius*.
7. Die inneren Schwielen und Schuppen (Lippen, Zunge, Magen der Wiederkäuer; Zunge, Gaumen, Kehlkopf einiger Vögel.
8. Penisstachel mancher Tiere.
9. Die Hornscheiden des Kiefers (Schnabeltier, Chelonier, Vögel, Sirenen).
10. Die Kiemenbögen der Fische und Froschlarven.

Diese Substanzen wollen wir als echte Keratine bezeichnen. Über die anderen keratinähnlichen Substanzen: Schalenhautkeratine der Hühnereier, Neurokeratin etc. wird weiter unten zu sprechen sein.

Die Histologie der Keratine gibt uns nur wenig Aufschluss über das Wesen dieser Substanzen. Da wir beobachten, dass bei der Keratinisierung die Zelle der totalen Verhornung unterliegt, so können wir nur aussagen, dass die Keratine direkt aus dem Zelleiweiss durch irgend eine chemische Veränderung hervorgehen. Über den Zusammenhang zwischen den in verhornenden Zellschichten vorkommenden Substanzen Eleïdin, Pareleïdin, Keratohyalin einerseits und dem Horn andererseits ist Bestimmtes noch nicht bekannt.

Das Eleïdin soll ein fettes Öl, das Keratohyalin dagegen eine albuminoide Substanz und sehr ähnlich dem Hyalin Recklinghausens sein. *(Buzzi)*[1]).

Über den Prozess der Verhornung bemerkt *Apolant*[3]) „Bei der vollkommenen Zellenverhornung ist das Keratohyalin überhaupt nicht beteiligt. Es spricht alles dafür, dass nur die Fibrillarsubstanz verhornt, da dieselbe immer stärker ausgebildet ist, je intensiver der Verhornungsprozess vor sich geht, während das Keratohyalin ganz unabhängig davon als Produkt der Interfibrillarsubstanz sich zu Eleïdin umwandelt und aus den Zellen austritt. Innerhalb der Fasern erweist sich die Verhornung als diffuser Prozess, bei dem keinerlei Körnchenbildung auftritt".

Von den vielen Analysen, welche ältere und neuere Autoren an den Keratinen vorgenommen haben, mögen nur die wichtigsten an dieser Stelle wiedergegeben werden.

		C %	H %	N %	S %
Menschenhaare	*v. Laër*[4])	50,65	6,36	17.14	5,0
Horn	*Scherer*[5])	51,9	6,7	17,3	4,6
Menschenhaare	*Kühne* u. *Chittenden*[6])	49,85	6,52	16,8	4,02
Menschenhaare (rot)	*Horbaczewski*[7])	51,16	7,22	—	4,44
Ovokeratin	*Lindwall*[8])	49,78	6,64	16,43	4,25

Wegen seiner besonderen Höhe hat der Schwefelgehalt stets in erster Linie Beachtung gefunden. Ältere Bestimmungen liegen vor von *v. Bibra,*[9]) *Mulder*[10]) und *Tilanus,*[11]) neuere von *Suter*[12]) und *Mohr.*[13]) *Mohr* fand für

Menschenhaare	4,95—5,34 %	Schwefel
Tierhaare	3,56—4,35 %	„
Gänsefedern	3,16 %	„
Hufe	2,69—3,57 %	„

v. Bibra l. c. fand:

Ochsenhorn	3,08 %	„
Antilopenhorn	1,3—1,1 %	„

Bekannt ist, dass der Schwefel der Hornsubstanzen sehr leicht abspaltbar ist. Schon beim Befeuchten und be-

sonders beim Kochen mit Wasser entweicht Schwefelwasserstoff. Durch Kochen mit Lauge wird etwa die Hälfte des Schwefels abgespalten, in Hornspähnen fand *Mörner*[14]) 2/3 des Gesammtschwefels locker gebunden. Über leichte Abspaltbarkeit des Schwefels berichten *Suter*, l. c. *Mohr* l. c. ferner *Schützenberger*,[15]) *Horbaczewski*, l. c. *Lindwall*, l. c. *Krukenberg*,[16]) und *Bauer*.[17])

Über den Aschegehalt der Hornsubstanzen macht *Schlossberger* l. c. ausführliche Angaben. Die gesammte Aschenmenge schwankt zwischen 0,2 und 2 % und ist, besonders auffällig, bei den Haaren in ein- und demselben Gebilde sehr veränderlich. Die Haare enthalten in 1000 Teilen 230 Teile Alkalisulfat, 140 Teile Calciumsulfat, 100 Teile Fe^2O^3, bis zu 400 Teilen SiO^2. Die Nägel sind reich an Calciumphosphat, die Federn besonders an Kieselsäure, von welcher *Drechsel*[18]) behauptet, dass sie sich zum Teil als organischer Ester vorfindet. Auch der Fettgehalt ist bestimmt worden. *Schlossberger* l. c. gibt für Menschenhaare 2,1 %, für Büffelhorn 0,22 % an.

Wir betrachten nun die echten Keratine in ihrem Verhalten gegenüber Reagentien.

Das auffallendste Merkmal aller Keratine ist ihre vollkommene Unangreifbarkeit gegenüber peptischer oder tryptischer Verdauungsflüssigkeit. Auch in den neutralen Lösungsmitteln sind die Keratine vollständig unlöslich. Nur gewisse jugendlicher Hornschichten zeigen eine geringere Resistenz gegenüber Pepsin oder Trypsin. Essigsäure löst Keratine nicht auf. Gegen Schwefelsäure zeigt die Hornsubstanz eine merkwürdige Beständigkeit: in kalter konzentrierter Schwefelsäure bleibt sie entweder ganz unverändert, oder es tritt nur Quellung auf. Diese Angabe *Schlossberger*'s habe ich nachgeprüft, und gefunden, dass nach etwa 8 tägiger Einwirkung einer 40 % igen

Säure der grösste Teil des angewandten Keratins noch ungelöst war. Allerdings zeigte die Zersetzungsflüssigkeit nach Ablauf dieser Zeit Biuretreaktion, was auf eine Abspaltung albumoseartiger Produkte hinweist. Salzsäure färbt bei mehrtägigem Stehen, schneller beim Erhitzen violett bis blau; Haare färben sich mit der starken Säure purpurrot und lösen sich (nach *von Laer* l. c.) auch in der Kälte bei mehrwöchentlicher Maceration auf. Gegen fixe Alkalien zeigen jüngere bezw. ältere Horngebilde eine kleinere bezw. grössere Widerstandsfähigkeit. Nach *Smith*[19]) löst selbst Kalilauge von 10% nur in der Hitze. Von den Farbenreaktionen der Eiweisskörper fällt die Biuret- und Xanthoproteïnreaktion positiv, die Millonsche- und die Schwefelbleiprobe äusserst intensiv aus.

Ehe ich zur Schilderung der Spaltprodukte der Keratine übergehe, sei noch darauf hingewiesen, dass im ganzen Tierreich nur eine einzige Klasse von Organismen im Stande ist, Keratine direkt zu verdauen. Es sind dies die Raupen der Pelzmotte: Tinea pellionella und tapezella, ferner die Mallophaga (Nitzsch) [Phylopteridae, Trichodectes, Liotheidae]. Leider existiert über die Verdauungsfermente dieser Tiere keine Untersuchung, welche jedenfalls für die chemische Bedeutung der Keratine und für ihre Umwandlung bezw. Zurückverwandlung in natives Körpereiweiss von grösster Wichtigkeit sein müsste.

Bei tiefgehender Spaltung der Keratine mit verdünnter Mineralsäure entstehen Aminosäuren und zwar sehr viel Tyrosin, *(Cohn,*[20]) *Kühne* und *Ewald*,[21]) *Kühne* und *Chittendeu,* l. c. *Lindwall* l. c.) ferner Glutaminsäure, Leucin, wenig Asparaginsäure *(Hinterberger*,[22]) *Kreussler*,[23]) *Horbaczewski* l. c.); von den Diaminosäuren ist bis jetzt durch *Hedin*[24]) Lysin und Arginin gefunden worden.

(Cohn). Schützenberger fand Oxalsäure. Sehr exakte Untersuchungen über die bei Hydrolyse des Horns auftretenden Aminosäuren lieferten *Emil Fischer* und *Dörpinghaus*[25]) auf Grund der Trennungsmethode, welche *E. Fischer* für die Aminosäuren unter Zuhilfenahme ihrer Ester ausgearbeitet hat. *Fischer* und *Dörpinghaus* fanden folgende Produkte, auf prozentuale Mengen getrockneten Horns berechnet.

0,34 %	Glycocoll
1,2 %	Alanin
5,7 %	α-Aminoisovaleriansäure
18,3 %	Leucin
3,6 %	Pyrrolidinkarbonsäure
0,68 %	Serin
3 %	Phenylalanin
2,5 %	Asparaginsäure
3 %	Glutaminsäure
1,7 %	Pyrrolidonkarbonsäure.
40,02 %.	

Alle diese Werte bleiben wahrscheinlich noch hinter der wirklichen Menge der Aminosäuren zurück.

Die bis jetzt gefundenen schwefelhaltigen Spaltprodukte sind vor Allem Cystin, (*Emmerling,*[26]) *Mörner*) dann Thiomilchsäure *(Suter)* Äthylsulfid (*Mörner*) Methylmercaptan. (*Bauer*). Natürlich tritt bei der Hydrolyse Ammoniak und Schwefelwasserstoff in grossen Mengen auf. Ein Kohlehydrat fanden weder *Kühne* und *Ewald* noch *Neumeister*.[27]) Dagegen gibt *Hofmeister*[28]) an, dass ein Kohlehydrat in Keratin vorkomme. Haben nun alle diese einzelnen Daten gezeigt, dass die Keratine in ihrem Aufbau den nativen Eiweisskörpern sehr nahe stehen, so war es nun von Interesse, zu erfahren, ob die Ke-

ratine nicht auch solche höhere Eiweissspaltprodukte geben könnten, wie dies die nativen Eiweisskörper bei der Verdauung tun, nämlich Albumosen und Peptone. Dieser Gedanke ist bereits frühzeitig experimentell verfolgt worden. Da wir uns, wie aus dem Gesagten hervorgeht, der natürlichen Verdauungsflüssigkeiten zu diesen Zwecken nicht bedienen können, musste nach einer anderen Form der Zersetzung gesucht werden, und dieselbe bot sich auf Grund einer Beobachtung dar, welche bereits *Leyer* und *Koeller*[29]) an Vogelfedern gemacht hatten. Erhitzt man dieses Material mit Wasser in zugeschmolzenem Rohr auf 200°, so lösen sich die Federn vollkommen auf. Ähnliches hat auch bereits *Vauquelin*[30]) gesehen. *Kruckenberg*[16]) wiederholte diesen Zersetzungsversuch, merkwürdiger Weise ohne seine Vorgänger zu erwähnen. Es gelang ihm, aus der Zersetzungsflüssigkeit durch Kochsalzfällung und nachfolgendes Dialysieren einen Körper zu gewinnen, welchen er Keratinose nennt. Er benützte nun diese Tatsache und einige sich auf sie beziehende Reaktionen zu weitgehenden theoretischen Schlüssen, ohne aber die Einheitlichkeit seines Produktes darzutun, oder auch nur Analysen desselben anzuführen.

Durch die Untersuchung von *Neumeister*[31]) ist nun bekannt geworden, dass bei der Zersetzung von Eiweisskörpern durch überhitzten Wasserdampf eigentümliche, sog. Atmidkörper entstehen und als nun in neuester Zeit *Bauer*[17]), Krukenberg's Angaben nachprüfte, fand er, dass auch das Keratin bei dieser Behandlung in ein Atmidkeratin, eine Atmidkeratose und Peptone zerfällt. *Bauer* neutralisierte die Zersetzungsflüssigkeit und sättigte sie dann mit pulverisiertem Steinsalz. Hierbei entstand eine reichliche Fällung, die dem *Neumeister*schen Atmid-

albumin entsprach. Das Filtrat wurde mit kochsalzgesättigter Salzsäure versetzt. Hierbei trat zuerst eine Fällung von Atmidkeratin und Atmidkeratose auf und schliesslich nur noch die sog. Atmidkeratose selbst. Ich werde *Bauers* Angaben über das reaktionelle und analytische Verhalten dieser Substanzen später in tabellarischer Form zum Zwecke eines Vergleichs mit den von mir gefundenen Keratinosen wiedergeben.

An dieser Stelle verdient auch noch eine Arbeit von *Liebreich*[32]) Erwähnung, welcher angibt, dass aus Keratin durch Hydrolyse kein Glutin entsteht, sondern ein schwefelfreier Körper, das sog. Keratosolvin. Über den von *Hedin*[24]) aus Hornspähnen durch Einwirkung von Salzsäure dargestellten Körper $C_{14}H_{38}N_4O_{12}SCl_4$ ist nichts genaueres bekannt geworden.

Wir gehen nun zu den bisher zu der Gruppe der Keratine mitgerechneten keratinähnlichen Substanzen über und zwar zu dem Schalenhautkeratin, welches wir der Kürze halber Ovokeratin nennen wollen dem Neurokeratin und der sog. keratinoiden Substanz von *Hedenius*.

Über das Schalenhautkeratin der Hühnereier besitzen wir eine Arbeit von *Lindwall* (l. c.) welcher nach eingehender Reinigung des Schalenhäutchens das Ovokeratin auf dem Wasserbade mit 1—2%iger Alkalilauge digerierte. Es spaltete sich Schwefel ab und Alkalialbuminat und Pepton wurden gebildet. Für das Alkalialbuminat fand der genannte Autor folgende Zahlen:

		für Ovokeratin:	
C	53,4	C	49,78
H	6,68	H	6,64
N	16,11	N	16,43
S	2,14	O	4,25
O	22,63		

Dieses Produkt fällt aus, wenn man die alkalische Lösung neutralisiert. Das Filtrat gibt eine intensive Biuretreaktion. Es liefert, konzentriert und dialysiert, einen leicht löslichen, nicht gerinnenden, leicht diffundierenden Eiweiskörper, der qualitiv ein typisch echtes Pepton darstellt. *Mörner* gibt entgegen einer Behauptung *Lindwall*s an, dass er in der Schalenhaut des Hühnereis kein Tyrosin gefunden habe, und man deshalb die Substanz nicht unter die eigentlichen Keratine rechnen dürfe. —

Sehr ausführliche Angaben über die keratinöse Grundsubstanz der Eihüllen bei einigen Vertebraten macht *Neumeister*[27]), wobei er feststellt, dass die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Schalenhäute sowohl gegenüber Verdauungsflüssigkeit wie auch gegenüber Alkalien beträchtlich wechselt. Eine Zwischenstellung zwischen Keratin und Elastin nimmt die Eihülle von Coluber natrix ein, welche *Hilger*[33]) untersucht hat. Die Sustanz ist in Alkalien nicht unlöslich, wohl aber völlig resistent gegenüber Verdauungsflüssigkeit. Sie wird von *Neumeister* als Kreatoelastin bezeichnet. Die Eischalen von Mustellus laevis scheinen ihrer Verdaulichkeit wegen dem Elastin noch näher zu stehen (*Krukenberg.*[34])

Bei den Wirbellosen finden sich keratinöse Eischalen nach den Befunden von *Krukenberg* und von *W. Engel*[35]) (bei Murex). Die Eischalen von Bombyx mori untersuchte *Tichomiroff*[36]). Er fand für das sie bildende Keratin (Chorion) folgende Analysenzahlen:

C	=	47,27 %
H	=	6,71 „
N	=	16,93 „
S	=	3,27 „
O	=	24,72 „
Asche	=	0,70 „

Jedenfalls darf, soviel geht aus allen bisherigen Untersuchungen hervor, die ältere Auffassung nicht mehr aufrecht erhalten werden, dass Eihüllen anderer Tiere chitinöser Natur seien. Die sie bildenden Substanzen stehen den Keratinen nahe, wenn sie vielleicht auch nicht vollständig als solche zu bezeichnen sind.

Untersuchungen über einen eventuellen Zusammenhang zwischen der Schalenhaut und den Farbstoffen gefärbter Eier sind bis jetzt noch nicht angestellt worden, obschon es sicher von Interesse wäre, zu erfahren, ob nicht die Bildung dieser Farbstoffe auf ähnliche Vorgänge bezw. Abspaltung ähnlicher Gruppen zurückzuführen wäre, wie dies bei den Melaninen der echten Keratine der Fall zu sein scheint. Einige aus Eischalen isolirte Farbstoffe sollen chemisch den Gallenfarbstoffen nahestehen, was allerdings gegen einen solchen Zusammenhang sprechen würde.

Neurokeratin nennt man nach *Kühne, Ewald* und *Chittenden* (l. c.) einen Bestandteil des Gehirns und der markhaltigen Nerven, welchen man erhält, wenn man Gehirn- oder Rückenmark nacheinander mit kaltem und heissem Alkohol sowie Äther extrahiert, der Pepsin-Trypsinverdauung unterwirft, mit 0,5 % Alkali und nochmals mit Alkali und Äther behandelt. Das Neurokeratin bildet 15—20 % der trockenen Substanz im Zentralnervensystem. Es besitzt, trotzdem es in sehr dünnen Lamellen auftritt, die Resistenz der echten Keratine gegenüber Alkalilauge und Verdauungsflüssigkeiten. Als Zersetzungsprodukt liefert es viel Tyrosin und wenig Leucin; in seiner Zusammensetzung weicht es beträchtlich von den echten Keratinen ab. Dieselbe wurde gefunden zu:

C	56,11—58,45 %
H	7,26— 8,02 „
N	11,46—14,32 „
S	1,63— 2,24 „
Asche	0,74— 2,38 „

Noch zu erwähnen sind zwei Substanzen, welche Zwischenstufen zwischen koaguliertem Eiweiss und Keratin darzustellen scheinen. Es ist dies das von *Mörner*[37]) im Tracheulknorpel nachgewiesene Albumoid welches nach seinen Löslichkeitsverhältnissen und seinem Gehalt an bleischwärzendem Schwefel, Ähnlichkeit mit den Keratinen besitzt, dagegen in seiner Verdaulichkeit durch Magensaft dem Eiweis nahe steht. Eine andere derartige Substanz fand *Hedenius*[38]) im Muskelmagen der Hühner. Dieselbe ist gegen Verdauungsfermente ebenso resistent, wie die echten Keratine, doch enthält sie nur 1 % Schwefel und gibt bei der Zersetzung sehr viel Leucin, aber nur äusserst wenig Tyrosin. Ihre Analysenzahlen wurden gefunden zu:

C	53,21 %
H	7,17 „
N	15,78 „
S	1,13 „
Asche	0,47 „

Anhang:

Die Melanine.

Im Tierkörper finden sich an den verschiedensten Stellen schwarze Pigmente, bis jetzt unbekannter Konsti-

tution, die sog. Melanine. Zu ihnen sind die schwarzen Farbstoffe zu rechnen, welche in den Haaren, im Horn und in den Hufen vorkommen, und es dürfte nicht auszuschliessen sein, dass die Bildung dieser Farbkörper in einem gewissen Zusammenhang mit der Keratinisierung selbst steht. Mit Bezug hierauf sei besonders auf eine Äusserung *Lists*[39]) hingewiesen, welcher sagt: „Es gibt Gewebe, in welchen gerade in den verhornten Zellen am meisten Pigment enthalten ist. Ich erinnere an die Haut von Torpedo, in welcher die oberste Lage verhornter Zellen massenhaft Pigment enthält Ich erinnere an *Nörners* Arbeit, über den Bau des Pferdehufes, in welcher uns geschildert wird, das gerade die Hornzellen des Hufes reichlich Pigment enthalten."

Ehe ich nun hier behufs eines später anzustellenden Vergleiches mit dem aus dem Ochsenhorn gewonnenen Keratomelanin die bis jetzt isolierten natürlichen Melanine beschreibe, sei in Kürze auf ein künstliches Melanin hingewiesen, welches v. *Fürth*[40]) aus Casein einerseits und Hornspähnen andererseits durch Einwirkung von reiner konzentrierter Salpetersäure gewann. Er nennt diese Produkte, welche sich in den verschiedensten Lösungsmitteln, z. B. Äthylalkohol und Aceton, mit Leichtigkeit lösten, Xanthomelanine und bringt dieselben in Zusammenhang mit der Melanoidinsäure *Schmiedebergs*. Er macht darauf aufmerksam, dass für Xanthomelanin aus Casein das Verhältnis:

$$N : C : H = 1 : 13{,}29 : 13{,}28$$

ist, während für *Schmiedebergs* Melanoidinsäure das Verhältnis:

$$1 : 14{,}1 : 13{,}6$$

besteht.

Von den künstlichen Melaninen sei die Analyse desjenigen Körpers angeführt, welchen *Chittenden* und *Albro*[41]) durch 110 stündiges Kochen von Eiweiss mit 10% Schwefelsäure erhielten.

C = 58,05 %
H = 7,30 „
N = 11,92 „

Auf die theoretischen Auseinandersetzungen, welche *Schmiedeberg*[42]) an die Elementarformeln seiner Melanoidinsäure knüpft, soll hier nicht näher eingegangen werden, und es sei diesbezüglich auf *F. N. Schulz* eingehende Kritik derselben verwiesen.[43])

Die natürlichen Melanine sind in 2 Gruppen zu trennen:

1. Die normaler Weise im Tierkörper vorkommenden Farbstoffe und
2. die pathologischen Farbstoffe der Melanosarkome, die sog. Phymatorhusine.

Über die ersteren liegen Untersuchungen von *Abel*[44]), von *Sieber*[45]), *Nencki* und *Sieber*[46]), *Abel-Davis*[47]), *Scherer*[48]) und *Landold*[49]) vor. Ich greife als für unsere Zwecke besonders wesentlich die Angaben von *N. Sieber* heraus, welcher zur Darstellung des Haarpigmentes folgendermassen verfuhr: Menschliche Haare mit etwa dem 10fachen Gewicht 5%iger Alkalilauge bei Wasserbadtemperatur digeriert, lösten sich allmählich vollständig auf. Beim Ansäuren entwich viel Schwefelwasserstoff und nach hinreichendem Säurezusatz fiel ausser einer klebrigen Proteinsubstanz auch der grösste Teil des Farbstoffes nieder. Mit Bezug auf diese Art der Iso-

lierung sei eine Angabe *Schlossberger*s[1]) erwähnt, dass nach *Scherer* den Horngebilden durch Kalilauge ein mit Essigsäure fällbarer brauner Stoff entzogen werden könne, welcher Schwefel enthält. *Scherer* gibt für diesen Körper die Zahlen:

C = 52,80 %
H = 7,07 „
N = 14,80 „
S+O = 25,33 „

Sieber hat nun den Farbstoff durch Lösen in Ammoniak und Fällen mit Salzsäure am Rückflusskühler weiter gereinigt. Der Körper erwies sich als leichtlöslich in Alkalien und löslich in Wasser, Alkohol, Äther etc. Er war eisenfrei, aber schwefelhaltig. Die Analysen ergaben:

I.	II.
C = 57,19 %	C = 56,17 %
H = 6,97 „	H = 7,57 „
S = 2,71 „	N = 8,5 „
	S = 4,10 „

Ein schwarzer Farbstoff, welcher aus Rosschweifen gewonnen worden war, ergab:

C = 57,6 %
H = 4,2 „
N = 11,6 „
S = 2,1 „
O = 27,5 „

Die Pigmente der Chorioidea des Auges sollen schwefelfrei sein. Ganz abweichende Analysenwerte ergaben die Untersuchungen von *Abel* und *Davis*, über das Pigment der Negerhaut. Meist abnorm hohe Schwefel-

[1]) Thierchemie pag. 291. Vgl. daselbst über Versuche von v. Bibra.

zahlen zeigen die für unseren besonderen Gesichtspunkt nicht in Frage kommenden pathogenen melanotischen Pigmente.

Zum Schlusse sei bemerkt, dass man vielfach daran gedacht hat, die Melanine in einen genetischen Zusammenhang mit dem Blutfarbstoff zu bringen, und zwar ihres Eisengehaltes wegen, aber von anderer Seite ist dieser Ansicht, und wie es scheint, mit Recht widersprochen worden. Ich möchte die Vermutung aussprechen, dass die Melanine, welche in den Keratinen vorkommen, nach Entstehung und Ausgangsmaterial mit den Keratinen selbst verwandt sind und dass dieselben — womit jedoch keineswegs eine Formulierung im *Schmiedeberg*schen Sinne angedeutet werden soll — als Nebenprodukte der Keratinisierung entstehen.

II.

Experimenteller Teil.

I. Die Methode der Untersuchung.

Um den in der Einleitung ausgesprochenen Gedanken der Zerlegung der Keratine in echte Albumosen zur Ausführung zu bringen, bediente ich mich der Hydrolyse mittels sehr verdünnter Schwefelsäure, da ja eine Anwendung peptischer oder tryptischer Verdauungsflüssigkeiten von vorn herein aussichtslos erschien. Dass diese Methode der peptischen Verdauung analog ist, ist durch eine ganze Reihe von Arbeiten, von welchen ich nur die aus neuester Zeit stammenden von *Goldschmidt* [50]) und von *Zunz*[51]) erwähnen will, bewiesen worden. Ich durfte annehmen, dass bei den Keratinen der Verlauf der Reaktion ebenso sein würde, wie bei den nativen Eiweisskörpern, d. h., dass sich zuerst Acidalbumin bezw. -keratin bilde und dieses dann weiter in Albumosen und Peptone zerlegt werden würde.

Die Schwefelsäure brachte ich deshalb in Anwendung, weil sich die bei der Hydrolyse gebildeten Sulfate glatt durch Anwendung der Barytfällung zerlegen lassen, während die Zerlegung von Hydrochloraten, welche sich

bei der Anwendung von Salzsäure bilden, bedeutend umständlicher sich gestaltet und auch mit grossen Verlusten verknüpft ist. Allerdings muss ich bemerken, dass eine oxydierende Wirkung der Schwefelsäure nicht ausgeschlossen ist; hierauf soll am Schlusse noch eingegangen werden. Den Konzentrationsgrad der angewandten Säure bemass ich nach der Resistenz des zu zersetzenden Materials und zwar wählte ich für das Ochsenhorn eine 1%ige Säure, während für das Ovokeratin nur 1/2 %ige Säure in Anwendung kam. Die Methode der Trennung der einzelnen Albumosen von einander war gegeben, durch die Untersuchungen, welche *E. P. Pick*[52]) an dem Pepton-Witte-Gemisch angestellt hat. Diese Methode soll nun in Kürze beschrieben werden.

Nach *Pick* bringt man die neutrale Albumoselösung durch Hinzufügen des gleichen Volumens einer gesättigten Ammonsulfatlösung auf Halbsättigung. Hierdurch werden die beiden primären Albumosen zusammen ausgefällt. Durch abermaliges Lösen des Niederschlags in Wasser und Fällen mit dem halben Volumen 95%igen Alkohols wird diese erste Albumosefraktion in die alkoholunlösliche Heteroalbumose und die alkohollösliche Protoalbumose zerlegt. Das Filtrat des primären Albumosenieder-schlags wird nun durch Hinzufügung des halben Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung auf Zweidrittelsättigung gebracht. Hierbei scheidet sich die Deuteroalbumose A ab, welche sich durch fraktionierte Alkoholfällung bei den Fibrinosen in einen schwefelreicheren und schwefelärmeren Anteil zerlegen lässt. Das zweidrittel gesättigte Filtrat wird durch Zusatz von Ammonsulfat in Substanz total gesättigt und so die Deuteroalbumose B abgeschieden, welche sich ihrerseits wieder

durch fraktionierte Alkoholfällung in drei Anteile zerlegen lässt, deren mittelster die Kohlehydratgruppe lokalisiert enthält. Beim Ansäuern des letzteren Filtrates mit ammonsulfatgesättigter $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure fällt die dritte Albumosefraktion C heraus, und nun enthält die Lösung nur noch Peptone.

Bei dem in folgendem zu beschreibenden Versuchen musste die Zerlegung der Fraktion A und der Fraktion B mittelst Alkoholfällung unterbleiben, weil in jedem Falle und bei jedem einzelnen Versuche die Ausbeuten zu gering waren. Die Fraktion C war überhaupt nicht auffindbar und die Untersuchung der Peptone habe ich deshalb nicht unternommen, weil eine exakte Trennungsmethode für diese Körper, welche einen Vergleich mit den Produkten der peptischen Verdauung nativer Eiweisskörper ermöglichen würden, bis jetzt noch nicht vorliegt. Doch habe ich das Auftreten der Peptone qualitativ mit aller Deutlichkeit nachweisen können. Sowohl bei dem Ochsenhorn, wie bei dem Ovokeratin stellten sich die Mengenverhältnisse der von mir untersuchten vier Fraktionen folgendermassen dar. Bei Weitem die Hauptmenge bildet die Heteroalbumose, bedeutend kleiner an Menge war die Protoalbumose und ihr ziemlich gleich kam die Deuteroalbumose B. Die Deuteroalbumose A dagegen trat nur in äusserst geringer Ausbeute auf. Die Methode der Keratomelaningewinnung aus den Rückständen der Säurebehandlung soll später geschildert werden. Wir gehen nun zur Betrachtung der einzelnen Albumosen über.

II. Zersetzung des Ochsenhorns.

Die Untersuchung begann ich nun in der Weise, dass ich das aus möglichst feingeraspeltem, schwach

dunkelgefärbten Ochsenhorn bestehende Ausgangsmaterial vor Allem einer sorgfältigen Reinigung unterwarf. Zu diesem Zwecke überliess ich dasselbe sechs Stunden lang der Einwirkung einer 0,5%igen Salzsäure, digerierte nach erschöpfendem Auswaschen mit warmem Wasser ebenso lange Zeit in der Kälte mit einer gleich starken Alkalilauge, wusch wiederum aus bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion, und konnte nach dem Behandeln mit Alkohol und Äther und Trocknen im Vakuum ein möglichst reines Ausgangsprodukt erhalten. Um sicher zu sein, ob nicht doch noch Eiweisskörper den Hornspähnen anhaften könnten, nahm ich einen Verdauungsversuch vor, indem ich 10 gr Substanz mit etwa 100 ccm 3‰ salzsäurehaltigem Wasser versetzte, Pepsin zugab und das Gemisch mehrere Tage hindurch bei etwa 40° sich selbst überliess. Der gänzlich negative Ausfall der Biuretreaktion bewies mir nicht nur die Reinheit des Ausgangsmaterials, sondern auch die völlige Widerstandsfähigkeit der Hornspähne gegenüber peptischer Verdauung. Gleichzeitig habe ich die Reaktionen nachgeprüft und dabei gefunden, dass die Spähne beim längeren Kochen mit Wasser aufquellen, auf Zusatz von Salpetersäure sich gelb färben (Xanthoproteïnreaktion) eine positive Millon-probe und eine violette Biuretreaktion geben. Eine Zersetzung beobachtete ich beim Kochen mit 10% Kalilauge, in welcher beim Zusatz von Mineralsäuren unter gleichzeitiger Schwefelwasserstoffentwicklung ein flockiger Niederschlag erzeugt wurde.

300 gr Hornspähne wurden nun mit 2 Litern einer 1%igen Schwefelsäure am Rückflusskühler über einer kleinen Gasflamme direkt erhitzt. Bereits nach mehrstündigem gelinden Kochen war eine Zersetzung in sofern bemerkbar, als die anfänglich klare, wasserhelle

Flüssigkeit eine gelbliche Farbe angenommen hatte. Nach Ablauf von 8 Stunden wurde die Hydrolyse unterbrochen, und die erhaltene Lösung von dem bereits dunkler gefärbten Rückstand abgegossen und filtriert. Der letztere wurde von neuem mit 2 Liter der Säure von der erwähnten Konzentration beschickt und ebensolange gekocht. Die Hydrolyse wurde im ganzen dreimal wiederholt, eine nochmalige hydrolitische Einwirkung konnte unberücksichtigt bleiben, da der Rückstand hierbei, fast keine abspaltbaren Produkte lieferte; die ganz schwache Schwefelwasserstoffentwicklung, die beim ersten Male aufgetreten, war schon bei der zweiten Säureeinwirkung nicht mehr wahrnehmbar.

Ich will hier bemerken, dass bei Anwendung einer 2%igen Säure eine starke Schwefelabscheidung in Form gelber Schuppen im Rückflusskühler wahrnehmbar wurde.

Die vereinigten goldgelben Filtrate wurden zunächst neutralisiert und über Nacht stehen gelassen. Es hatte sich in diesem Zeitraume ein Neutralisationsniederschlag gebildet, und am Boden abgesetzt, aber in solch geringer Menge, dass er einer näheren Untersuchung nicht unterzogen werden konnte. Es ist jedoch anzunehmen, dass wir in diesem Niederschlag eine Art Acidalbumin zu erblicken haben, dessen Abscheidung bei noch deutlich saurer Reaktion durch die Bildung von Neutralsalz bedingt wird. (vergl. *Goldschmidt*).

Die von dem Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit ist durch einen schwach leimartigen Geruch ausgezeichnet. Kupersulfat und Kalilauge bewirken eine intensive Biuretreaktion, konzentrierte Salpetersäure verursacht tiefe Gelbfärbung, die auf Zusatz von Kalilauge in orange

umschlägt; der positive Ausfall der Millon'schen Reaktion zeigt die Gegenwart von Tyrosin an. Beim Kochen mit Kalilauge und etwas Bleiacetatlösung tritt Schwärzung in Folge Bildung von Schwefelblei auf, ausserdem bewirken Kochsalz oder Ammonsulfat in Substanz zugegeben, flockige Abscheidungen. Verdünnte Salpetersäure erzeugt einen starken Niederschlag. Alle angestellten Reaktionen weisen darauf hin, dass sich in der Lösung Albumosen befinden.

Trennung der Keratinosen.

I. Die Heterokeratinose.

Aus der klaren albumosehaltigen Flüssigkeit wurde nun durch Zusatz des gleichen Volumens einer kalt gesättigten Ammonsulfatlösung, also durch Halbsättigung eine völlige Abscheidung der primären Albumosen erzielt; nach mehrstündigem Stehenlassen wurde der Niederschlag, der sich schwer am Boden abgeschieden hatte, sorgfältig abgepresst und in ziemlich viel Wasser gelöst. Das Gemisch der primären Albumosen wurde nun wieder durch Halbsättigung ausgefällt, mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung nachgewaschen, vorsichtig abgepresst und durch Aufstreichen auf Thonteller von der salzhaltigen Flüssigkeit soweit wie möglich befreit, damit eine Verschiebung der Fällungsgrenzen vermieden werde. Lösung und Fällung wurde noch ein drittes Mal wiederholt; allerdings traten bei der letzten Umfällung Verluste dadurch ein, dass ein nicht unbeträchtlicher Teil der Substanz durch Bildung der in Wasser völlig unlöslichen Dysalbumose sich weiterer Lösung und Fällung entzog.

Um die Heterokeratinose von der Protokeratinose zu trennen, wurde das Gemisch nach einer vorhergehen-

den mehrtägigen Dialyse in heissem Wasser gelöst und zwar so, dass eine etwa 40%ige Lösung erhalten wurde. Ohne Berücksichtigung der beim Erkalten auftretenden Trübung wurde das halbe Volumen 95%igen Alkohols zugegeben; dabei schied sich die Heterokeratinose vollständig ab. Der Niederschlag wurde mit 45%igem Alkohol gut abgepresst, wiederum gelöst, gewaschen und nochmals mit dem halben Volumen 95%igen Alkohols zur Fällung gebracht. Sodann wurde der Niederschlag ein drittes Mal gelöst, durch Alkohol gefällt und mit 45%igen Alkohol nachgewaschen. Da das alkoholische Filtrat weder Biuret- noch Xanthoproteinreaktion gab, so konnte ich die primäre Albumose als völlig frei von benachbarten Albumoseanteilen betrachten, da sie jedoch auch salzhaltig war, so musste zunächst diese Verunreinigung beseitigt werden. Ihre wässerige Lösung wurde deshalb unter Vermeidung eines Überschusses mit einer gesättigten, filtrierten Lösung von essigsaurem Baryum versetzt. Vor dem nach Ablauf einiger Stunden sich absetzenden Baryumsulfatniederschlag wurde die klare Flüssigkeit abfiltriert, und aus diesem Filtrat durch Zusatz von Ammoncarbonatlösung der überschüssige Baryt ausgefällt. Das Filtrat wurde gekocht, nochmals filtriert und auf dem Wasserbade etwas eingeengt, durch einen Überschuss von Alkohol ausgefällt und auf einem Seidenfilter zuerst mit 32%, dann mit 95%igen Alkohol und endlich mit Äther gewaschen. Nach dem Trocknen im Vokuum und darauf bei 110° blieb die Heterokeratinose als weisses nicht hyproskopisches leichtes Pulver zurück, an dem sich zum Unterschied von der *Pick*'schen Heterofibrinose und der von mir gewonnenen, später zu beschreibenden Ovokeratinose keine Dunkelfärbung bemerken liess. In ihrem sonstigen Verhalten zeigte sie

wesentliche Übereinstimmung mit dem Produkt von *Pick*. Sie ist in kaltem Wasser nur wenig löslich, leichter jedoch in heissem, um sich beim Erkalten grösstenteils wieder abzuscheiden. Zum Unterschied von der Protokeratinose wird sie aus ihren Lösungen durch wenig Alkohol bereits ausgefällt.

Gegen Reagentien verhält sich die Heterokeratinose in ihrer stets trüben Lösung folgendermassen:

Salzsäure
Schwefelsäure } lösen.

Essigsäure bewirkt Klärung.

Salpetersäure verursacht flockigen Niederschlag, der sich im Überschuss der Säure nicht löst, wohl aber beim Erwärmen, beim Erkalten jedoch wieder erscheint.

Auf Zusatz eines gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung und Essigsäure erscheint eine beim Erwärmen verschwindende, beim Erkalten wieder auftretende Fällung; Kochsalzlösung allein bewirkt dichte Trübung.

Verdünnte Kupfersulfat und Kupferacetatlösung geben Trübung, die sich beim Erwärmen löst.

Bleiacetat gibt Trübung

Metaphosphorsäure erzeugt massigen, flockigen Niederschlag, der im Überschuss sich löst.

Ferrocyankali und Essigsäure erzeugen Trübung.

Pikrinsäure, Gerbsäure, Kaliumquecksilberjodid geben Trübungen, die in der Wärme sich lösen.

Jodjodkalium, Phosphorwolframsäure, Sublimat bringen reichliche Fällung hervor.

Millons Reaktion ist stark positiv.

Biuret Probe violett.

Xanthoproteinreaktion: schön gelb. Schwefelbleiprobe positiv. Dagegen ist die

Molisch-Probe vollkommen negativ.

Beim Erhitzen auf dem Platinblech hinterlässt die Heterokeratinose eine schwer verbrennliche glänzende Kohle, die bei Gebläsetemperatur ohne Rückstand verschwindet: Dies Produkt war aschefrei.

Durch die Elementaranalyse wurden folgende Zahlenwerte gefunden:

	I.	II.	III.
C	46,81 %	46,89 %	47,19 %
H	6,64 „	6,66 „	6,91 „
N	13,85 „	14,04 „	
S	3,39 „	3,50 „	3,12 „

2. Die Protokeratinose.

Aus dem alkoholischen Filtrat der Heterokeratinose liess sich in folgender Weise die Protokeratinose isolieren:

Die gesammte Lösung wurde im Vakuumapparat abdestilliert, der Rückstand zur völligen Trockne gebracht, gepulvert und von neuem in heissem Wasser gelöst. Durch Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung wurde die Protokeratinose abgeschieden. Nach einer dritten Lösung und Fällung wurde der Niederschlag abgepresst, von der anhaftenden Ammonsalzlösung durch Aufstreichen auf Thon zum grössten Teil befreit und einer mehrtägigen Dialyse unterworfen. Nach Beendigung derselben löste ich das Produkt in möglichst wenig Wasser und erzielte durch die vorhin schon beschriebene Barytfällung die völlige Entfernung von Schwefelsäure. Aus dem Filtrat wurde nun die Protokeratinose in reiner Form durch Zusatz eines Al-

koholüberschusses abgeschieden, abermals gelöst, in 60 % igem Alkohol aufgenommen, eingeengt und mit viel absolutem Alkohol gefällt. Lösung und Fällung wurden noch mehrere Male wiederholt und schliesslich die Protokeratinose nach dem Trocknen im Vakuum und bei 110° als schwach gelblich gefärbtes Pulver erhalten.

Da nun durch angestellte Beobachtungen ermittelt wurde, dass der Alkoholfällung selbst bei Anwendung eines beträchtlichen Überschusses ein kleiner Teil der Protokeratinose entgeht, wurden die vereinigten alkoholischen Lösungen ihrerseits nochmals auf Protokeratinose verarbeitet, wodurch die an sich geringe Ausbeute ein wenig verbessert werden konnte.

Die Protokeratinose ist charakterisiert durch ihre Löslichkeit in kaltem wie heissem Wasser, namentlich aber durch die relativ leichtere Löslichkeit in verdünntem Alkohol; auch in ihrem reaktionellen Verhalten unterscheidet sie sich von der Heterokeratinose, wie aus folgendem zu ersehen ist:

Weder Essigsäure noch verdünnte Salpetersäure bringen Trübung hervor.

Salzsäure oder Schwefelsäure bewirken keinerlei Trübung.

Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung und Ansäuern mit Essigsäure erzeugt eine beim Erwärmen sich aufhellende und in der Kälte wieder erscheinende Opaleszenz. Kochsalz in Substanz zugefügt, gibt nur schwache Trübung.

Verdünnte Kupfersulfatlösung bewirkt ebenfalls schwache Trübung.

Bleiacetatlösung desgleichen.

Metaphosphorsäure verursacht Trübung, die in der Wärme verschwindet und beim Erkalten wieder auftritt.

Ferrocyanwasserstoffsäure, Trichloressigsäure, Gerbsäure, Pikrinsäure } geben Trübung

Jodjodkali oder Jodquecksilberkali mit Salzsäure erzeugen in der Hitze lösliche, beim Erkalten ausfallende Niederschläge, ebenso bringen.

Sublimat und Phosphorwolframsäure Fällungen hervor.

Von den bekannten Farbenreaktionen fallen

die Millonsche Probe, die Biuretreaktion, die Schwefelbleiprobe positiv aus, dagegen ist die Reaktion nach Molisch gänzlich negativ.

Beim Erhitzen hinterbleibt eine schwer verbrennliche Kohle, die erst bei höherer Temperatur verschwindet.

Durch die Elementaranalyse ergaben sich für die aschefreie Substanz folgende Werte:

	I	II
C =	47,27 %	47,03 %
H =	7,06 %	6,51 %
N =	13,58 %	13,75 %
S =	2,92 %	

3. Die Deuteroalbumosen A und B.

Die durch Halbsättigung von den primären Albumosen befreite Lösung wurde nun durch Zusatz des

halben Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung auf Zweidrittelsättigung gebracht: nach etwa 24 stündigem Stehen hatte sich eine Abscheidung gebildet, die zum grösseren Teil in Form einer klebrigen, am Boden des Gefässes sich festsetzenden gelben Masse, zum geringeren Teil in Krustenform an der Flüssigkeitsoberfläche erfolgte. Das auf diese Weise gewonnene die Deuterokeratinose A darstellende Produkt wurde auf Seide gesammelt, gut abgepresst, nochmals in Wasser gelöst und zum Zwecke der Abscheidung von anhaftenden, der ersten Fällung entgangenen primären Albumosebeimengungen mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt. Nachdem ich von dem entstandenen geringen Niederschlag abfiltriert hatte, brachte ich durch Zweidrittelsättigung die Deuterokeratinose A abermals zur Abscheidung. Der Niederschlag wurde abgepresst, auf Thon gestrichen und wieder gelöst. Dieses Reinigungsverfahren wurde noch ein drittes Mal wiederholt, um eine möglichst vollkommene Entfernung der Nachbarfraktionen zu erzielen. Da das Produkt noch ammonsulfathaltig war, wurde es durch Behandlung mit essigsaurem Baryt und kohlensaurem Ammonium, Aufkochen des barytfreien Filtrates, Einengen der Lösung auf dem Wasserbade und mehrtägiger Dialyse salzfrei gewonnen. Aus der wässerigen Lösung wurde durch einen Überschuss von 95 % igem Alkohol die sekundäre Keratinose in Form grosser weisslicher Flocken ausgefällt. Der Niederschlag wurde dann nach vorhergehendem, guten Abpressen abermals aus seiner konzentrierten wässerigen Lösung ausgefällt und diese Prozedur noch ein drittes Mal wiederholt. Nach längerem Auswaschen mit Alkohol und Äther, Trocknen im Vakuum und bei 110° gewann ich eine Deuterokeratinose A, die durch ihre leichte Lös-

lichkeit in Wasser und verdünntem Alkohol ausgezeichnet ist.

Was das reaktionelle Verhalten des salz- und aschefrei sich erweisenden Produktes anbelangt, so sei vor Allem nochmals erinnert, dass Halbsättigung nicht die geringste Fällung verursacht.

Weder Mineralsäuren noch Essigsäure bewirken Fällung,

Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure jedoch Fällungen.

Beim Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge entsteht rache Abscheidung von Bleisulfid.

Die Millon'sche Reaktion fällt schön rot,

die Biuretprobe violett aus.

Dagegen bleibt die Molisch-Probe völlig negativ.

Bei der Reinigung der Deuterokeratinose hatte ich die Beobachtung gemacht, dass ein nicht unbeträchtlicher Teil durch seine grosse Alkohollöslichkeit der Ausfällung entgeht, und auch nicht auf Zusatz eines 4 fachen Volumens Alkohol zur Abscheidung gebracht werden konnte; während es *Pick* glückte, durch Zufügung des 2—3 fachen Volumens Alkohol die Trennung einer alkohollöslichen und einer alkoholunlöslichen Deutero-Fibrinose zu bewirken, konnte ich in Folge der Trennungsschwierigkeit sowie der geringen Ausbeuten auf eine genauere Untersuchung der beiden Fraktionen, deren qualitativer Nachweis erbracht zu sein scheint, leider noch nicht näher eingehen.

Die durch die Analysen ermittelten Zahlen sind aus der beifolgenden Tabelle ersichtlich.

	I	II
C =	46,80 %	46,92 %
H =	6,53 %	6,65 %

N = 13,75 % 13,86 %
S = 3,51 %

Aus dem zweidrittelgesättigten Filtrat der Deuterokeratinose A wurde nun durch Hinzufügung von Ammonsulfat in Substanz bis zur Totalsättigung die Abscheidung einer der Deuteroalbumose B entsprechenden Fraktion bewirkt. Die Abscheidung erfolgte in Form hellbrauner Krusten an der Flüssigkeitsoberfläche. Der Niederschlag wurde sorgfältig gesammelt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung ausgewaschen, gut abgepresst und durch Lösen in Wasser in der ungefähr früheren Konzentration und Umfällen mit Ammonsulfat gereinigt. Die Umfällung erfolgte natürlich in der Weise, dass zuerst $^1/_2$ dann $^2/_3$, schliesslich Totalsättigung hervorgerufen wurde. Das Produkt wurde in der gewohnten Weise durch Barytfällung von anhaftender Schwefelsäure befreit und einer mehrtägigen Dialyse unterworfen. Die Abscheidung der Deuterokeratinose B erfolgte schliesslich durch Eingiessen der zur Syrupdicke eingedampften ausdialysierten Flüssigkeit in einen grossen Überschuss von 95 %igen Alkohol.

Auch hier habe ich die Betrachtung machen können, dass diese Gesammtfraktion wahrscheinlich noch Anteile von verschiedener Alkohollöslichkeit besitzt; auch hier verbot die geringe Ausbeute eine weitere Zerlegung der Fraktion im Sinne *Pick*'s, doch ist es unzweifelhaft, dass spezielle auf diesen Zweck gerichtete Versuche an der Hand grösserer Ausbeuten zur Isolierung einer eigentlichen „Glykokeratinose" führen werden.

Die Deuterokeratinose B im Vakuum und bei 110° getrocknet, stellte ein weisses, kreidiges Pulver dar, welches alle Reaktionen einer echten Deuteroalbumose gab, durch den ausserordentlich intensiven

Ausfall der Reaktion nach Molisch sich von den übrigen Keratinosen scharf unterschied und gegenüber der analogen Deuterofibrinose eine bedeutend stärkere Schwefelbleiprobe aufwies. Auch diese Keratinose war aschefrei.

Ihre Analyse ergaben folgende Zahlen:

C =	45,79 %	45,85 %
H =	7,12 „	7,29 „
N =	12,59 „	12,98 „
S =	3,00 „	3,15 „

Durch Zusatz eines zehntel Volumens ammonsulfatgesättigter $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure zu dem Filtrat der Deuterokeratinose B konnte die Abscheidung einer Fraktion C nicht mehr bewirkt werden. Das Filtrat enthält lediglich Peptone, deren qualitativer Nachweis durch folgende Reaktionen gelang:

Die Biuretprobe gab eine Rotfärbung oder Lugolsche Lösung (ammonsulfatgesättigte Jodjodkalilösung) erzeugte dichte Niederschläge.

Wir gehen nun zur Besprechung des von verdünnten Säuren nicht weiter angegriffenen Rückstandes über.

4. Das Keratomelanin.

Wie bereits erwähnt, war durch die Säurebehandlung keineswegs eine völlige Lösung der Hornsubstanz herbeigeführt worden; weitmehr blieb ein dunkel gefärbter Rückstand zurück, der von der Säure nicht weiter angegriffen wurde, da nach mehrstündigem Kochen derselben mit 1 %iger Säure kein Filtrat resultierte, welches eine Biuretreaktion mehr gab. Dagegen löste sich der Rückstand mit brauner Farbe glatt in 15 %iger Kalilauge und liess sich daraus durch Säurezusatz wieder ausfällen. Hierbei trat namentlich wenn die Lösung vorher kurz auf dem Wasserbade erwärmt worden war, eine inten-

sive Schwefelwasserstoffentwickelung auf und das sich nicht völlig entfärbende Filtrat gab deutliche Biuretreaktion. Auch konnte ich beim erstmaligen Lösen noch die Abspaltung von Heterokeratinose an ihrer Fällbarkeit durch Salpetersäure deutlich erkennen. Lösen in Alkali und Fällen mit Säure wiederholte ich nun solange, bis weder Schwefelwasserstoff noch Albumosereaktion mehr auftrat. Schliesslich wurde das Produkt noch einmal in Ammoniak gelöst und mit Essigsäure gefällt, ausgewaschen und einer lang anhaltenden Dialyse gegen destilliertes Wasser unterworfen. Das dann im Vakuum bei 110° getrocknete Produkt war tief schwarz und zeigte folgendes reaktionelle Verhalten:

In 25%igem Alkohol, auch in Aceton war es mit dunkelbrauner Farbe löslich; aus diesen Lösungen wurde es durch Zusatz von sehr viel Wasser wieder gefällt. Von seiner Löslichkeit in Alkalien und Fällbarkeit durch Säuren wurde bereits gesprochen.

Von den Eiweissreaktionen fielen die Millon'sche die Biuretreaktion, die Probe nach Molisch und die Schwefelbleiprobe negativ, die Xanthoproteïnreaktion positiv aus.

Erhitzt man die Substanz mit Salzsäure und destilliert ein wenig ab, so färbt das Destillat Anilinacetatpapier rot. Bei der Kalischmelze trat ein schwacher Geruch nach Skatol auf, die Substanz hinterliess beim Verbrennen einen Ascherückstand, in dem Calcium, Eisen und Phosphorsäure in Spuren nachgewiesen werden konnten. Der Aschegehalt betrug 1,67%.

Durch die Elementaranalyse wurden nachstehende auf aschefreie Substanz berechnete Werte ermittelt:

	I.	II.
C	61,43	61,68
H	5,55	5,70
N	11,57	11,87
S	2,92	2,40

III. Zersetzung des Schalenhautkeratins.

In gleicher Weise, wie bei dem Ochsenhorn führte ich eine Aufspaltung der Schalenhaut der Hühnereier aus, mit dem Unterschiede, dass ich unter Anpassung der Säurestärke an das Material eine nur $^1/_2$ %ige Schwefelsäure wählte.

Bevor ich auf eine Beschreibung der Ausführung eingehe, möchte ich in Kürze die Reinigungsmethode des aus Hühnereierschalen isolierten Schalenhautkeratins mitteilen.

Zur Entfernung der Kalkwand wurden die zerkleinerten Eierschalen in der Kälte mit einer grösseren Menge verdünnter Salzsäure digeriert. Die vollständige Auflösung des Kalkes nahm eine ziemlich lange Zeit in Anspruch; schliesslich wurde das Material gründlich durch Waschen mit Wasser von der Säure befreit und nun mehrere Tage hindurch mit ständig gewechselter 0,1 %iger Natronlauge behandelt, wieder gewaschen und dann ebenso oft mit verdünnter Essigsäure digeriert, mit kaltem, hierauf mit siedendem Wasser ausgewaschen und endlich mit Alkohol und Äther erschöpft. *(Lindwall).*

Das blättrige, trockene Material liess sich zu einem weissen Pulver zerreiben, und zeigte folgende Reaktionen:

Es quillt in Wasser stark auf, löst sich in Kalilauge wie in verdünnter Säure, gibt eine positive Biuret-, eine positive Xanthoproteïn- und eine starke Schwefelblei-

reaktion, dagegen fällt die Millonsche Probe völlig negativ aus.

Sehr schön lässt sich die Biuretprobe an dem nicht gepulverten Material zeigen: Man lässt auf dasselbe kurze Zeit verdünnte Kalilauge einwirken, und setzt dann einen Tropfen Kupfersulfatlösung zu. Hierdurch nehmen die Blättchen eine prachtvoll violette Farbe an, während die Flüssigkeit, da kein lösliches Eiweis mehr anhaftet, farblos bleibt.

Die Zersetzung wurde nun in der Weise bewirkt, das 100 Gramm des gereinigten Schalenhautkeratins mit 1 1/2 Litern einer 1/2%igen Schwefelsäure am Rückflusskühler über freier Flamme etwa 8 Stunden lang bis zu gelindem Sieden erhitzt wurden. Bereits nach Ablauf einer Stunde zeigte die hellgelbe Färbung der Schwefelsäure, dass eine Zersetzung eingetreten war, und schon am Ende der ersten hydrolytischen Einwirkung der schwachen Säure liess sich beobachten, dass ein grosser Teil des Schalenhautkeratins in Lösung gegangen war, während ein dunkelgelber, an den Gefässwandungen festsitzender, klebriger Rückstand sich gebildet hatte. Letzterer wurde nochmals ebensolange mit 1 1/2 Litern der erwähnten Säurn gekocht. Es erfolgte eine totale Lösung, ein dunkelgefärbter Rückstand, wie er bei der Hydrolyse des Ochsenhorns gebildet wurde, trat nicht auf.

Die vereinigten, goldgelben, bouillonartig riechenden Lösungen zeigten eine violette Färbung auf Zusatz von Kupfersulfat und wenig Kalilauge, gaben eine positive Xanthoproteïnreaktion, eine intensive Fällung auf Zusatz von Salpetersäure, aber ebenfalls wieder eine völlig negative Tyrosinreaktion.

Die Hydrolysate wurden nun durch Ammoniakzusatz neutralisiert, über Nacht stehen gelassen und von dem

sich bildenden geringen Neutralisationsniederschlag abfiltriert. Aus der schwach mit Essigsäure angesäuerten Lösung fällte ich nun, um bei der mutmasslich geringen Albumosemenge nicht mit allzugrossen Flüssigkeitsmassen arbeiten zu müssen, zuerst alle Albumosen insgesamt durch Totalsättigung mittels Ammonsulfat aus, presste den Niederschlag gut ab, und löste ihn in Wasser. An dieser Lösung habe ich nun die in Folgendem zu beschreibende Trennung der einzelnen Albumosen von einander durchgeführt.

I. Die Hetero-Ovokeratinose.

Zunächst brachte ich die Albumoselösung durch Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammonsulfatlösung auf Halbsättigung und erzielte so die Ausfällung der beiden primären Ovokeratinosen, die nach 12stündigem Stehen als total angesehen werden konnte. Die Flüssigkeit wurde abfiltriert, der Niederschlag auf Seide koliert, mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung nachgewaschen, abgepresst, zur ursprünglichen Konzentration in Wasser gelöst und abermals gefällt. Lösung und Fällung wurde noch dreimal wiederholt, und ich konnte hierbei die Beobachtung machen, dass die hier vorliegenden Ovokeratinosen nicht die geringste Tendenz zur Dysalbumosebildung haben. Schliesslich wurde das Ovokeratinosegemisch durch Abpressen auf Thon von dem anhaftenden Ammonsulfat möglichst befreit und in konzentrierter Lösung mit dem doppelten Volumen 95%igen Alkohols versetzt. Hierdurch schied sich die Hetero-Ovokeratinose als braune, gummiartige Masse ab; das Filtrat enthielt die Proto-Ovokeratinose. Den Niederschlag unterwarf ich der Fällung mit Alkohol noch

einige Male, wusch ihn dann mit verdünntem Alkohol aus, löste ihn in heissem Wasser und befreite ihn von der anhaftenden Schwefelsäure bezw. dem Ammonsulfat durch die mehrfach beschriebene Barytfällung. Die schliesslich salzfrei dialysierte Lösung wurde auf dem Wasserbade eingeengt und noch warm in absoluten Alkohol eingegossen; hierbei schied sich die Hetero-Ovokeratinose in Form gelblich weisser Flocken ab; die Substanz wurde mit Alkohol und Äther gewaschen, erst im Vakuum, dann bei 110° getrocknet und stellte ein weisses wenig hygroskopisches Pulver dar, das sich in seinem reaktionellen Verhalten in auffallender Weise von den bisher bekannten Heteroalbumosen unterschied. Schon der Umstand war bemerkenswert, dass die Hetero-Ovokeratinose, wie schon erwähnt, sich nicht in Dysalbumose umwandelte.

Verdünnte Salpetersäure bewirkte einen sehr starken Niederschlag, der beim Erwärmen verschwand, um beim Erkalten wiederzukommen.

Aber auch verdünnte Salzsäure rief einen im Überschuss des Fällungsmittels nicht löslichen Niederschlag hervor und verdünnte Schwefelsäure bewirkte ebenfalls einen Niederschlag, der sich jedoch im Überschuss der Säure löste.

Im Übrigen gibt die Substanz alle für eine Albumose charakteristischen Reaktionen, wie ich sie auch bereits für die Heterokeratinose beschrieben habe. Besonders erwähnt sei nur der vollkommen negative Ausfall der Millonschen Reaktion.

Das Produkt erwies sich als aschefrei und gab bei der Analyse folgende Zahlen:

	I.	II.
C =	45,75 %	46,11 %
H =	7,27 „	7,33 „
N =	12,93 „	12,58 „
S =	1,91 „	2,26 „

2. Die Proto-Ovokeratinose.

Aus dem alkoholischen Filtrat gewann ich eine Proto-Ovokeratinose in der üblichen Weise. Der Alkohol wurde im Vakuum abdestilliert, der trockne gepulverte Rückstand mit 60 %igem Alkohol aufgenommen, und die mit Wasser verdünnte Lösung durch Halbsättigung mit Ammonsulfat noch zweimal umgefällt. Der Niederschlag wurde in wässeriger Lösung durch die Barytfällung von der Schwefelsäure befreit, die Lösung zur Syrupdicke eingedampft und durch Eingiessen in absoluten Alkohol die reine Proto-Ovokeratinose in Form weisser Flocken abgeschieden und schliesslich in gewohnter Weise getrocknet. Die Reaktionen der Substanz waren dieselben, wie die der Protokeratinose, nur mit dem Unterschied, dass hier der negative Ausfall der Millon'schen Reaktion die völlige Abwesenheit von Tyrosin bewies. Die aschefreie Substanz ergab folgende analytischen Werte:

	I.	II.
C =	45,71 %	45,75 %
H =	61,65 „	6,79 „
N =	12,10 „	12,40 „
S =	1,92 „	— „

3 Die Deutero-Ovokeratinose.

Aus dem halbgesättigten Filtrate der beiden primären Ovokeratinosen liessen sich zwei Deutero-Ovokeratinosefraktionen durch Zweidrittel- bezw. Totalsättigung isolieren.

Auch hier fehlte, wie beim echten Keratin die Fraktion C vollkommen; im ursprünglichen Filtrat, welches nach der totalen Ausfällung aller Ovokeratinosen zurückblieb, liessen sich, wie beim Ochsenhornkeratin beschrieben, Peptone qualitiv sicher nachweisen.

Leider war nun die Menge der bei Zweidrittelsättigung als fester Bodensatz sich abscheidenden Deutero-Ovokeratinose nach stattgefundener Reinigung so ausserordentlich gering, dass ich es unterlassen musste, ihre quantitative Zusammensetzung festzustellen. Ich muss mich deshalb hier vorerst darauf beschränken, die qualitativen Reaktionen dieses Produktes anzugeben.

Die allgemeinen Reaktionen der Deuteroalbumosen fielen alle positiv aus, völlig negativ dagegen war die Millon'sche Reaktion, die Schwefelbleiprobe nicht erheblich stärker als die der anderen Fraktionen, und die Probe nach Molisch ergab nur eine leichte Gelbfärbung.

Durch Totalsättigung der zweidrittel gesättigten Lösung schied sich eine Deutero-Ovokeratinose B in hellbraunen Krusten ab. Nach mehrfacher Umfällung wurde die Substanz in wässeriger Lösung durch Baryumacetatzusatz von der Schwefelsäure befreit und aus dem stark eingeengten Filtrat durch grossen Alkoholüberschuss wieder zur Abscheidung gebracht. Die nach dem Trocknen hellgefärbte pulverige Substanz gab ebenfalls wieder alle Reaktionen der Deuteroalbumosen, jedoch fiel auch hier wieder die Tyrosinprobe vollkommen negativ aus.

Besonders charakteristisch aber für diese Ovokeratinosefraktion ist der Umstand, dass sie eine äusserst intensive Reaktion nach Molisch zeigt, womit die Anwesenheit eines Kohlehydratkomplexes bewiesen ist.

Die aschefreie Substanz, bei deren Analyse wegen Mangels an Material eine Bestimmung des Schwefels leider unterbleiben musste zeigte folgende Zusammensetzung:

C = 45,16%
H = 7,26 „
N = 12,91 „

III. Zusammenfassung der Resultate.

Fassen wir die Ergebnisse vorstehender Untersuchung zusammen, so können wir folgendes aussagen:

1. Durch die Einwirkung sehr verdünnter Mineralsäuren in der Wärme lassen sich die Keratine in echte Albumosen und Peptone zerlegen, welche für das Ausgangsmaterial charakteristische Merkmale aufweisen; es entstehen die beiden primären Keratinosen bezw. Ovokeratinosen. Eine der Albumosefraktion C entsprechende Keratinose bildet sich nicht.

2. Das Verfahren zur Trennung der Albumosen nach *Pick*, eine Kombination von Ammonsulfat- und Alkoholfällung hat sich auch hier vollkommen bewährt. Es gelang, mit schärfster Abgrenzung der Heterokeratinosen von den Protokeratinosen zu trennen und an der auch für die Fibrinosen charakteristischen Stelle, d. h. mit der Deuterokeratinofraktion B. die Lokalisation einer Kohlehydratgruppe nachzuweisen. Dieser letztere Umstand zeigt, wie ich glaube, deutlich die nahe genetische Beziehung, in welcher die Keratine zum nativen Eiweiss stehen.

3. Die fast vollkommen gleiche Verteilung des Schwefelreichtums auf alle Keratinosefraktionen zeigt uns, das nicht ein besonders schwefelreicher Eiweissanteil

zur Bildung des Keratins herangezogen worden ist, sondern dass vielmehr ein ziemlich gleichförmiger Austausch von Sauerstoff gegen Schwefel im Sinne von *Drechsel* stattgefunden haben muss. Sehr auffallend ist der durchgängig niedere Kohlenstoffgehalt der Keratinosen. An das Vorhandensein von Keratinosesulfaten ist bei der sorgfältigen Reinigung durch Barytfällung nicht zu denken; möglich wäre jedoch, dass die Schwefelsäure eine gelinde, oxydierende Einwirkung ausgeübt hätte. Dieselbe wäre dann mit derjenigen zu vergleichen, welche *Oswald*[53]) bei der Jodierung der Fibrinosen beobachtet hat. Eine zweite Möglichkeit wäre noch die, dass dieser niedrige Kohlenstoffgehalt durch eine Oxydation bei der Keratinisierung selbst bedingt wäre, und wir hätten dann an eine Abspaltung von solchen Komplexen zu denken, wie sie vergleichsweise das ausserordentliche kohlenstoffreiche, aber relative schwefelarme Keratomelanin darstellt. Mit Sicherheit lässt sich diese Frage bis jetzt noch nicht entscheiden.

4. Zu wichtigen Ergebnissen führt der Vergleich zwichen echtem Keratin und Ovokeratin während bei ersterem sämtliche Keratinosen, auch die Heterokeratinose durch ihre starke Millon'sche Reaktion ihren Reichtum an Tyrosin zeigen, erweist sich das Ovokeratin allen seinen Teilen als völlig tyrosinfrei, was ja auch schon *Mörner* gegenüber *Lindwall* betonte. Ferner besitzt das Ovokeratin eine Heteroalbumose, die in ihrem Verhalten von der Heterokeratinose vollkommen verschieden ist; auch ist hier nochmals hervorzuheben, dass das Ovokeratin sich in verdünnter Mineralsäure ohne Hinterlassung eines resistenten Rückstands löst. Warum der Schwefelgehalt der Hetero- und der Proto-

Ovokeratinose so sehr von dem des Ausgangsmaterials (*Lindwall* fand für dasselbe über 4% abweicht, ist aus dem vorliegenden Untersuchungsmaterial noch nicht zu ersehen. Eine Abspaltung von Schwefel*) durch die Einwirkung der Mineralsäure ist bei dem sehr leicht angreifbaren Material immerhin nicht auszuschliessen.

Ziemlich ähnliche analytische Zahlen wie ich, haben auch *Nencki, Berdez* und *Sieber* für ihre Hippomelaninsäure und für das aus Menschenhaaren gewonnene Melanin gefunden. Zum Schlusse sei erwähnt, dass für mein Keratomelanin das Verhältnis von:

N : H : C wie 1 : 6,8 : 6,7 ist,

während *v. Fürth* für sein Xanthomelanin das Verhältnis

1 : 13,28 : 13,29 feststellte,

also für H und C. fast genau die doppelten Werte fand. In seinem Löslichkeitsverhältnis zeigt das Keratomelanin sowohl mit dem Melanin von *Sieber* als auch mit *v. Fürth's* Xanthomelanin Übereinstimmung.

Anhang.

Versuch zur Darsellung einer aromatischen Dijodaminosäure.

Auf Anregung des Herrn Dr. *E. Strauss*, welcher sich mit Studien über Jodeiweisskörper beschäftigte, habe ich die Darstellung eines Dijodtyrosins in Angriff ge-

*) Es sei bemerkt, dass die sehr beträchtliche Stickstoffabnahme ebenso auf die Einwirkung der Säure zurückgeführt werden kann, indem Aminostickstoff abgespalten wird.

nommen. Ich ging dabei von dem Gedanken aus, dass es für die Erforschung krystallisierter, jodhaltiger Spaltprodukte, welche man eventuell aus Jodeiweisskörpern gewinnen könnte, von Interesse sein dürfte, gut charakterisierbares synthetisches Vergleichsmaterial in Händen zu haben; ich habe deshalb gerade eine Jodierung des Tyrosins unternommen, weil zur Zeit des Beginn's dieser Arbeit Herr *Dr. Strauss* noch hoffte, aus dem Jodospongin ein jodiertes Tyrosin als Spaltprodukt erhalten zu können.

Ich teile meine Versuche hier mit, soweit ich sie geführt habe; ihre hoffentlich bald mögliche Fortsetzung wird wohl sicher zu einem 3—5 Dijodtyrosin führen.

Den Ausgang zu meinen Versuchen nahm ich von der Synthese des Tyrosins, welche *Erlenmayer* u. *Halsey* [1]) geliefert haben; dieselben haben durch Kondensation von p-Oxybenzaldehyd und Hippursäure das Acetyllactimid einer Oxybenzoylamidozimmtsäure gewonnen und aus diesem durch Aufspalten mit Alkalien die freie Säure selbst dargestellt. Dieselbe geht durch Reduktion mit Natriumamalgam in alkalischer Lösung, welche Methode *Emil Fischer* verbessert hat, in Benzoyltyrosin über.

Um nun auf diesem Wege zu einem jodierten Produkt zu gelangen, kondensierte ich Hippursäure mit 3—5 Dijod-p-oxybenzaldehyd, welch' letzteren *Paal*[2]) zuerst dargestellt hat.

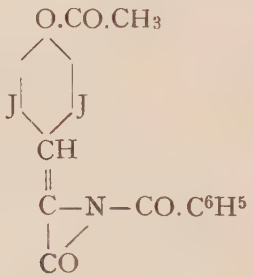
Nach seiner Vorschrift bereitete ich den 3—5 Dijod-p-oxybenzaldehyd und verfuhr zur Kondensation folgendermassen:

---

[1]) Ann. 307, 138.
[2]) Ber. 28, 2412. 29, 2302 u. 2355.

21 gr Aldehyd wurden mit 10 gr Hippursäure und 4,6 gr wasserfreiem Natriumacetat innig gemischt und nach Zusatz von 5,7 gr Essigsäureanhydrid auf dem dem Wasserbade etwa 20 Minuten erwärmt.

Das zu einem orangefarbigen Krystallkuchen erstarrende Reaktionsgemisch wurde zuerst mit heissem Wasser, dann mit verdünntem Alkohol gewaschen, in Chloroform gelöst und daraus mit Ligroïn mehrfach umgefällt. Der Körper löst sich leicht in Aceton, schwerer in Methylalkohol, Äthylalkohol, Chloroform und Essigäther, er zersetzt sich nicht scharf bei 210°. Nach Massgabe der Synthese haben wir dem Körper folgende Konstitution zuzusprechen:



Die Analysen ergaben:

Berechnet für $C_{18}H_{11}NO_4J_2$

1. Kohlenwasserstoff:

Angewandt: 0,1334 gr

CO_2 = 0,1900 „

H_2O = 0,0262 „

Berechnet: C = 38,66% . H = 1,97%

Gefunden: C = 38,84% . H = 2,19%

2. Stickstoff:
(Dumas)

Angewandt: 0,0874 gr

Abgelesen N: 2,2 ccm

b=714,5 mm; t=17°
Gefunden N 2,72%
Berechnet N 2,50 „

3. Jod:
(Carius)

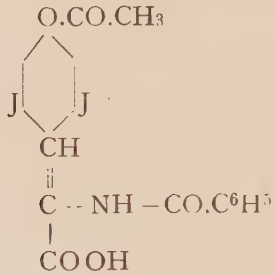
a) Angewandt: 0,11735 gr
Gewogen AgJ: 0,0981 gr
J. in gr: 0,0530 „
J.=45,12%

b) Angewandt=0,0983 gr
Gewogen AgJ.=0,083 gr
J.=0,04484 gr
J.=45,51%
Berechnet=45,41%

Das Lactimid wurde nun in 10% Natronlauge auf dem Wasserbade unter Erwärmen gelöst, wobei das gelbe Lactimid zuerst eine rötliche Farbe annahm, welche jedoch nach etwa 10 Minuten verschwand. Aus der klaren Lösung wurde sodann durch Zusatz von Salzsäure ein flockiger, weisser Niederschlag gewonnen, welcher aus Alkohol umkrystallisiert, kleine weisse Nädelchen bildete, die sich bei 235° zersetzten. Die so gewonnene freie Säure enthielt noch, wie sich experimentell und mittelst Analyse nachweisen liess, die Acetylgruppe. Es kommt ihr also die Konstitution einer

3—5 Dijod-acetyl-p-Oxybenzoylamidozimmtsäure

zu:



Die Analysen ergaben für die Formel $C_{18}H_{13}NO_4J_2$ berechnet, folgende Werte:

1) Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt: 0,0875 gr
Gewogen CO_2: 0,1198 „
H_2O: 0,0261 „
Gefunden C = 37,34% H = 2,56%
Berechnet C = 37,45 „ H = 2,25 „

b) Angewandt: 0,1243 gr
Gewogen CO_2: 0,1701 „
H_2O: 0,0281 „
Gefunden C: 37,32% H : 2,52%

2. Stickstoff:

Angewandt: 0,0787 gr
Abgelesen N: 2,0 ccm
b = 710 mm; t = 20°
Gefunden N: 2,71%
Berechnet N: 2,43 „

3. Jod:

a) Angewandt: 0,0905 gr
Gewegen Ag J 0,0738 „
J in gr: 0,03988 „

Gefunden: J = 44,06%

b) Angewandt: 0,1875 gr
Gewogen Ag J 0,1522 „
J in gr: 0,08185 „
Gefunden J = 43,70%
Berechnet = 43,99%

An dieser Stelle habe ich die Arbeit unterbrochen, hoffe jedoch, dieselbe bei Wiederaufnahme bis zur Gewinnung des 3 – 5 Dijodtyrosins durchführen zu können.

Analytische Belege.

Da sämmtliche, der Analyse zu unterwerfenden Substanzen schwefelhaltig waren, musste ich bei den Kohlenwasserstoff- und Stickstoffbestimmungen gekörntes Bleichromat in Anwendung bringen. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach *Dumas* ausgeführt, bei der Ermittlung des Schwefels wandte ich sowohl das Verfahren von *Carius*, wie die von *Asboth-Dühring* empfohlene Methode an, welch letztere sich sich sehr gut bewährt hat.

I. Heterokeratinose.

1. Kohlenwasserstoff

a) Angewandt 0,1333 gr
Gewogen CO_2 = 0,2288 gr
„ H_2O = 0,0789 gr
C = 46,81%
H = 6,64 „

b) Angewandt 0,1836 gr
Gewogen CO_2 = 0,3157 gr
„ H_2O = 0,1106 gr
C = 46,89%
H = 6,66 „

c) Angewandt = 0,1036 gr

Gewogen CO_2 = 0,1793 gr
„ H_2O = 0,0640 gr
C = 47,19 %
H = 6,91 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,1556 gr
Abgelesen N = 19,8 ccm
$t = 20^0$; b = 723,5 mm
N = 13,85 %

b) Angewandt 0,1344 gr
Abgelesen N = 17,1 ccm
$t = 18^0$; b = 723 mm
N = 14,04 %

3. Schwefel:

a) *Carius*

α) Angewandt = 0,2152 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,048 gr
S = 0,00662
S = 3,12 %

β) Angewandt 0,2398 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0612 gr
S = 0,08393 gr
S = 3,50 gr

b) *Asbóth-Dühring*

Angewandt 0,3253 gr
Gewogen $BaSO_4$ — 0,0799 gr
S = 0,01077 gr
S = 3,39 %

II. Protokeratinose.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt 0,1668 gr

Gewogen CO_2 = 0,2878 gr
„ H_2O = 0,0865 gr
C = 47,03 %
H = 6,51 „

b) Angewandt = 0,0739 gr
Gewogen CO_2 = 0,1281 gr
H_2O = 0,0468 gr
C = 47,27 %
H = 7,06 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,1000
Abgelesen 12,3 ccm
t = 18,0° b = 723 mm
N = 13,58 %

b) Angewandt 0,0949 gr
Abgelesen 12,0 gr
t = 20° b = 727,5 mm
N = 13,75 %

3. Schwefel:

Angewandt 0,1868 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0394 gr
S = 0,00546 gr
S = 2,92 %.

III. Deuterokeratinose A.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt = 0,0836 gr
Gewogen = 0,1432 gr
„ H_2O = 0,0487 gr
C = 46,80 %
H = 6,53 „

b) Angewandt = 0,1122

Gewogen CO_2 = 0,1931 gr
Gewogen H_2O = 0,1001
C = 46,92 %
H = 6,65 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,0785 gr
Abgelesen 10,2 ccm
t = 19,0° b = 716,5 mm
N = 13,75 %

b) Angewandt = 0,0949 gr
Abgelesen = 12,4 ccm
t = 22° b = 715 mm
N = 1386 %

3. Schwefel:

a) Angewandt 0,0804 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0205 gr
S = 0,00282 gr
S = 3,51 %

IV. Deuterokeratinose B.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt = 0,1735 gr
Gewogen CO_2 = 0,2913 gr
„ H_2O = 0,1112 gr
C = 45,79 %
H = 7,12 „

b) Angewandt 0,1552 gr
Gewogen CO_2 = 0,2610 gr
„ H_2O = 0,1020 gr
C = 45,85 %
H = 7,29 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,1063 gr

Abgelesen 12,8 ccm
t = 18,0° b = 710,5 mm
N = 12,98 %

b) Angewandt 0,1696 gr
Abgelesen = 19,3 ccm
t = 18,0° b = 711 mm
N = 12,59 %

3. Schwefel:

a) *Carius*

Angewandt 0,1715 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0395 gr
S = 0,00542 gr
S = 3,15 %

b) *Asbóth-Dühring*

Angewandt 0,2624 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,05740 gr
S = 0,00787 gr
S = 3,00 %

V. Das Keratomelanin.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt 0,1318 gr
Gewogen CO_2 = 0,297 gr
„ H_2O = 0,066 gr
C = 61,43 %
H = 5,55 „

b) Angewandt 0,1610 gr
Gewogen CO_2 = 0,3642 gr
„ H_2O = 0,0826 gr
C = 61,67 %
H = 5,70 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,1454 gr
Abgelesen 15,5 ccm

t = 20,0° b = 722 mm
N = 11,57 %
b) Angewandt 0,1116 gr
Abgelesen 12,3 ccm
t = 20,0° b = 718 mm
N = 11,87 %

3. Schwefel:

a) *Carius*

Angewandt 0,2787 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0553 gr
S = 0,00759 gr
S = 2,72 %

b) *Asbóth-Dühring*

Angewandt 0,2382 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0417 gr
S = 0,00572 gr
S = 2,40 %

VI. Die Hetero-Ovovokeratinose.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt 0,1673 gr
Gewogen CO_2 = 0,2814 gr
„ H_2O = 0,1096 gr
C = 45,75 %
H = 7,27 „

b) Angewandt 0,1041 gr
Gewogen CO_2 = 0,1760 gr
„ H_2O = 0,0698 gr
C = 46,11 %
H = 7,33 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,0987 gr
Abgelesen 11,8 ccm

$t = 19{,}0^0$ b = 718,5 mm
N = 12,93 %

b) Angewandt 0,0962 gr
Abgelesen 11,2 ccm
$t = 19{,}0^0$ b = 718,5 mm
N = 12,58 %

3. Schwefel:

a) *Carius*

Angewandt 0,3111 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0429 gr
S = 0,00591 gr
S = 1,90 %

b) *Asbóth-Dühring*

Angewandt 0,3190 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0526 gr
S = 0,00721 gr
S = 2,26 %

VII. Die Proto-Ovokeratinose.

1. Kohlenwasserstoff:

a) Angewandt 0,1086 gr
Gewogen CO_2 = 0,1817 gr
„ H_2O = 0,064 gr
C = 45,71 %
H = 6,65 „

b) Angewandt 0,1142 gr
Gewogen CO_2 = 0,1916 gr
„ H_2O = 0,0701 gr
C = 45,76 %
H = 6,79 „

2. Stickstoff:

a) Angewandt 0,0696 gr
Abgelesen 8,0 ccm

t = 20,0° b = 718 mm
N = 12,40 %

b) Angewandt 0,0794 gr
Abgelesen 8,9 ccm
t = 20,0° b = 718,5 mm
N = 12,10 %

3. Schwefel:

Angewandt 0,1014 gr
Gewogen $BaSO_4$ = 0,0142 gr
S = 0,0142 gr
S = 1,92 %

VIII. Die Deutero-Ovokeratinose.

1. Kohlenwasserstoff:

Angewandt 0,1016 gr
Gewogen CO_2 = 0,1683 gr
„ H_2O = 0,0664 gr
C = 45,16 %
H = 7,26 „

2. Stickstoff:

Angewandt 0,0986 gr
Abgelesen 11,5 ccm
t = 18,0° b = 710,5 mm
N = 12,46. %

Tabelle I.

Vergleich der analytischen Werte der Keratinosen.

	Mittelwerte				
	C %	H %	N %	S %	O %
Heterokeratinose	46,99	6,74	13,94	3,34	28,99
Protokeratinose	47,15	6,78	13.67	2.92	29,48
Deutero-Keratinose A.	46.86	6.59	13.80	3.51	29,24
Deutero-Keratinose B.	45,82	7,20	12.78	3,07	31,13
Hetero-Ovokeratinose	45,93	7,30	12,75	2,08	31,94
Proto-Ovokeratinose	45,73	6,72	12 25	1,92	33,38
Deutero-Ovokeratinose B.	45,16	7.26	12.46		
Bauers Atmidkeratin	53,13	6,00	16.40	1,55	22,82
Bauers Amidkeratose	53,43	5,24	16,60	1,54	23,19

Tabelle II.

Analytischer Vergleich der Melanine.

	Mittelwerte				
	C %	H %	N %	S %	O %
Keratomelanin	61,55	5,62	11,72	2,56	18,59
Melanoidinsäure aus Witte-Pepton Schmiedeberg	60,34	4,86	8,09	0,96	25,75
Xanthomelanin aus Casein v. Fürth	59,03	4,93	10,70		25,34
Siebers Melanin	60,12	4,81	10,81		24.26
Tryptophan aus Casein nach Hopkins und Cole.[54])	64,73	6,02	13,42		

Tabelle III.

Die Reaktionen der Keratinosen, Ovokeratinosen und Atmidkörper.

Reagens	Hetero-keratinose	Protokera-tinose	Deutero-kerati-nose A	Deutero-kerati-nose B	Hetero-Ovo-keratinose	Proto-Ovo-keratinose	Deutero-Ovokera-tinose A	Deutero-Ovokera-tinose B	Bauers At-midkeratin	Bauers At-midkeratose
Biuretreaktion	violett	violett	violett	violett	violett	violett	violett	violett	positiv	positiv
Millon	sehr stark	stark	stark	stark	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
Xantho-proteïn	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv		
Molisch	völlig negativ	völlig negativ	völlig negativ	sehr stark	völlig negativ	völlig negativ	schwache Gelbfärbung	sehr stark		
Schwefel-bleiprobe	sehr stark	sehr stark	sehr stark	sehr stark	positiv	positiv	positiv	positiv	nur dunkle Färbung	nur spuren-weise Dunkel-färbung
Verhalten gegen Alkohol	Unlöslich in 32 % Alkohol	Löslich in 60—80 % Al-kohol	Fällbar durch 70—80 % Al-kohol	Nicht einheit-lich fällbar durch Alkohol von 70—95 %	Fällt gallert-artig durch zirka 60 % Alkohol	Löslich in 60 % Alkohol	Löslich in 60 % Alkohol fällbar durch 95 %	Löslich in Alkohol bis 60 %	Fällbar durch absoluten Al-kohol und 1/3 Vol. Aether	Fällbar durch Alkohol
Verhalten gegen Am-monsulfat	Eällbar bei Halbsättigung	Fällbar bei Halbsättigung	Fällbar bei 2/3 Sättigung	Fällbar bei Totalsättigung	Fällbar bei Halbsättigung	Fällbar bei Halbsättigung	Fällbar bei 2/3 Sättigung	Fällbar bei Totalsättigung		Fällbar, Grenze un-bekannt
Essigsäure	Klärung der trüben Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Bei allmäh-lichem Zusatz flockige Fäl-lung. Ueber-schuss löst	Niederschlag im Ueber-schuss und in der Wärme löslich
Salzsäure	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Fällung	Lösung	Lösung	Lösung	"	"
Schwefelsäure	Lösung	Lösung	Lösung	Lösung	Fällung Ueberschuss löst	Lösung	Lösung	Lösung	"	"
Salpetersäure	Fällung	Lösung	Lösung	Lösung	starke Fällung	Lösung	Lösung	Lösung	"	"
Gesättigte Kochsalz-lösung und Essigsäure	Fällung	Trübung	Teilweise Fällung	Trübung	Fällung	Lösung	Teilweise Fällung	Teilweise Fällung	Sättigung mit NaCl ohne Säure fällt grösstenteils	Bei Zusatz von salzgesättigter Säure fällt Atmidkeratin und Atmid-keratose
Ferrocyan-wasserstoff-säure	Trübung	Trübung	schwache Trübung	schwache Trübung	Trübung	Trübung	schwache Trübung	schwache Trübung	Fällung in noch sehr ver-dünnter Lösung	
Schwermetall-salze	Fällung	Trübung	keine Trübung ($CuSO_4$)	keine Trübung	Fällung	Trübung	keine Trübung	keine Trübung	Reichliche Fällung	Voluminöse Niederschläge
Alkaloïd-Reagentien	Fällung teil-weise in der Wärme löslich	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	Reichliche Niederschläge	Voluminöse Niederschläge
Dysalbumose-bildung	sehr stark				Nicht wahr-nehmbar					

Literaturnachweis.

1. *Schlossberger*, Tierchemie 1856.
2. *Buzzi*, Monatshefte f. prakt. Dermatologie, (Hamburg) 7,761—62 und ebenda 8, 1—12, 149—163.
3. *Apolant*. Engelmanns Archiv für Physiologie 1901, 183.
4. *van Laer*, Ann. Chem. Pharm, 45, 147 (1843)
5. *Scherer*, Ann. 40, 54.
6. *Kühne und Chittenden* Zeitschr. f. Biolog 26, 291 (1890).
7. *Horbaczewsky*, Sitzungsber. d. Wiener Akad. 80, math. — nat. Cl II (1879).
8. *Lindwall*, Malys Jahresber. f. Tierchemie 11, 38 (1881).
9. *v. Bibra*, Ann. 96—289 u. 291—98. (1855).
10. *Mulder*, Physiol Chemie 556.
11. *Tilanus*, Mulder chem. Unters. übers. v. Völker, 270.
12. *Suter*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 564 (1895).
13. *Mohr*, ebenda 20, 400 (1894).
14. *Mörner*, ebenda 28, 595 (1899).
15. *Schützenberger*, Compt. rend. 86, 766.
16. *Krukenberg*, Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 20 Suppl. 39 ff.
17. *Bauer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 348 (1902).
18. *Drechsel*, Zentralblatt f. Physiol. 11, 361.
19. *Smith*, Zeitschr. f. Biolog. 19, 469 (1883).
20. *Cohn*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26. 395, (1899).
21. *Kühne u. Ewald*, Verh. d. naturh.-med. Vereins Heidelberg, N. F. I. 457 (1876).
22. *Hinterberger*, Ann. 71, 71 und 82, 252.
23. *Kreussler*, Journal f. pr. Chemie 107, 222, 240.
24. *Hedin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 186 (1894) und 21.
25. *Th. Dörpinghaus*, Berliner Dissertation (1902).
26. *Emmerling*, Verh. d. Ges. deutsch. Naturforscher u. Ärzte (1894) II, 2, 391.

27. *Neumeister*, Zeitschr. f. Biolog. 31, 413, (1895).
28. *Hofmeister*, Ergebn. d. Physiolog. Jahrgang I. Abt. 1 (1902) 793.
29. *Leger* u. *Köller*, Ann. 83, 336 (citiert nach Schlossberger).
30. *Vauquelin*, citiert nach Schlossberger, Tierchem. 288.
31. *Neumeister*, Zeitschr. f. Biolog 26, 57 (1890).
32. *Liebreich*, Archiv f. mikroskop. Anat. 40, 320 (1893)
33. *Hilger*, Ber. chem. Ges. 6, 165 (1873).
34. *Kruckenberg*, Vergl. physiol. Studien II. 2. Abt. 91.
35. *Engel*, Zeitschr. f. Biolog. 27, 374 (1890); 28, 345 (1891).
36. *Thichomiroff*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9. 518—532, 566—567.
37. *Mörner*, Maly's Jahresber. 18.
38. *Hedenius*, Skand. Archiv f. Physiol. 3, 244, (1891).
39. *List*, Biolog. Zentralbl. 10, 32, (1890).
40. *v. Fürth*, Strassburger Habilitationsschrift.
41. *Chittenden* u. *Albro*, Maly's Jahresber. (1899) 47.
42. *Schmiedeberg*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 39,1 (1897).
43. *F. M. Schulz*, Ergebn. d. Physiol. I Abteil. I, 526.
44. *Abel*, Vergl. 48.
45. *Sieber*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. 20, 362 (1885).
46. *Nencki* u. *Sieber*, Ebenda 24, 17 (1888)
47. *Abel* u. *Daves*, Journal of experiment. med. I, 361 (1896).
48. *Scherer*, Ann. 40, I (1841).
49. *Landold*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 192 (1899).
50. *Goldschmidt*, Strassburger Dissertation (1898).
51. *Zunz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 132 (1899).
52. *Pick*, Ebenda 24, 246; 28, 219, Hofmeister's Beiträge II. 1902, 481.
53. *Oswald*, Hofmeister's Beiträge III 1903, 391 ff.
54. *Hopkins* u. *Cole*, Journ. of physiol. 27, 418 (1901) [zu Tabelle II].

Lebenslauf.

Ich, Oskar, Friedrich, Ernst Siemering wurde am 7. August 1876 zu Tilsit als Sohn des jetzt in Wiesbaden privatisierenden Apothekers Oskar Siemering geboren. Vom April 1886 ab besuchte ich das Kgl. Gymnasium in Tilsit und verliess dasselbe im Herbst 1895, nachdem ich die Maturitätsprüfung bestanden hatte.

Den pharmazeutischen Beruf wählend begann ich meine Ausbildung in Dresden und unterzog mich nach Ablauf einer zweijährigen Lehrzeit im September 1897 mit gutem Erfolge der pharmazeutischen Vorprüfung. Hierauf war ich in Tilsit, Genf, Lausanne, Wiesbaden, Neustadt a. H. und München tätig und bezog im Sommer-Semester 1900 die Universität zu München, um dem Studium der Pharmazie und angewandten Chemie obzuliegen. Im April 1902 bestand ich das pharmazeutige Staatsexamen und im Frühjahr 1903 die Verbandsprüfung.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und praktischen Übungen der Herren Proffesoren

Hilger, von Bayer, Koenigs,
Goebel, Giesenhagen,
Roentgen und Zehnder.

Ihnen allen spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.